

**POLYPEPTIDE HAVING AMINO ACID SEQUENCE RELATED
TO ANTIHUMAN HIGHLY AFFINITIVE IGE RECEPTOR
MONOCLONAL ANTIBODY AND DNA FRAGMENT CAPABLE OF**

[71] **Applicant:** RA TOMOYASU; ASAHI
BREWERIES LTD; TORII
YAKUHIN KK; NIKKA UISUKII ...

[72] **Inventors:** RA TOMOYASU;
OKUMURA YASUSHI; TAKAI
TOSHIRO; OKUMURA YASUSHI; ...

[21] **Application No.:** JP05264792

[22] **Filed:** 19931022

[43] **Published:** 19950627

[No drawing]

Go to Fulltext

[57] Abstract:

PURPOSE: To obtain the subject new polypeptide, capable of specifically recognizing a human highly affinitive IgE receptor, elucidating an antigenic region of an antihuman affinitive IgE receptor monoclonal antibody and useful for treating and diagnosing, etc., allergic inflammations, etc. **CONSTITUTION:** This polypeptide selected from formula I (FR1 to FR4 each is each a polypeptide residue; CDR1H to CDR3H each is an H chain variable region) and formula II (FR5 to FR8 each is a polypeptide residue; CDR1L to CDR3L each is an L chain variable region) is obtained by administering a human highly affinitive IgE receptor as an antigen to a Balb/c mouse, immunizing the mouse, collecting a cell of the spleen thereof, fusing the resultant cell to a cell of a myeloma, selectively culturing the fused cell, providing a hybridoma cell, cloning the cell, affording a hybridoma cell capable of producing an antihuman highly affinitive IgE receptor monoclonal antibody, subsequently isolating an mRNA from the resultant cell, synthesizing a cDNA using the mRNA as a template, amplifying the H and L chains in the variable region of a murine antibody according to a polymerase chain reaction (PCR) and expressing the amplified H and L chains with a host cell.

[51] **Int'l Class:** C07K01628 C07H02104 C12N00510 C12N01502
C12N01509 C12P02108 G01N03353 G01N033577 A61K039395 C12P02108
C12R00191

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平7-165799

(43) 公開日 平成7年(1995)6月27日

(51) Int.Cl. ⁸	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 7 K 16/28		8318-4H		
C 0 7 H 21/04	B			
C 1 2 N 5/10				
		7729-4B	C 1 2 N 5/ 00	B
		9281-4B	15/ 00	C
審査請求 未請求 請求項の数10 O L (全 20 頁) 最終頁に続く				

(21) 出願番号 特願平5-264792

(22) 出願日 平成5年(1993)10月22日

特許法第30条第1項適用申請有り 平成5年9月30日
日本アレルギー学会発行の「アレルギー 第42巻 第9号」に発表

(71) 出願人 592172921

羅 智靖

千葉県千葉市花見川区花園2-14-13

(71) 出願人 000000055

アサヒビール株式会社

東京都中央区京橋3丁目7番1号

(71) 出願人 591039263

鳥居薬品株式会社

東京都中央区日本橋本町3丁目4番1号

(71) 出願人 000110918

ニッカウキスキー株式会社

東京都港区南青山5丁目4番31号

(74) 代理人 弁理士 渡邊 一平 (外1名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗ヒト高親和性 I g E 受容体モノクローナル抗体に係るアミノ酸配列を有するポリペプチド、及

(57) 【要約】 びこれをコードするDNA断片

【目的】 抗ヒト抗親和性 I g E 受容体モノクローナル抗体の抗原認識領域、特にその C D R を解明し、治療や診断において有用な、ヒト高親和性 I g E 受容体の特異的に認識することのできるアミノ酸配列を有するポリペプチド、及びそれをコードする塩基配列を提供する。

【構成】 ヒト高親和性 I g E 受容体の特異的に認識することのできるポリペプチド、及びそれをコードする塩基配列。配列表により特定して大別した 10 種類のポリペプチドがある。

【効果】 ヒト高親和性 I g E 受容体を認識するモノクローナル抗体 5 種類の抗原認識部位が特定され、該認識部位を含有するポリペプチドの遺伝子工学的製造手段が提供された。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 下記一般式（1）及び一般式（2）より選択され、ヒトの高親和性IgE受容体の特異的に認識することができるものであることを特徴とするポリペプチド。

FR1-CDR1H-FR2-CDR2H-FR3-CDR3H-FR4…（1）

（上式中のFR1は29～36個の、FR2は10～16個の、FR3は32～35個の、FR4は12～14個のそれぞれアミノ酸から構成されるポリペプチド残基であり、CDR1Hは配列表の配列番号1で、CDR2Hは配列表の配列番号2で、CDR3Hは配列表の配列番号3でそれぞれ表され、ここでアミノ酸Cysは酸化状態において架橋を形成していることがある。）

FR5-CDR1L-FR6-CDR2L-FR7-CDR3L-FR8…（2）

（上式中のFR5は23～28個の、FR6は14～16個の、FR7は30～34個の、FR8は9～11個のそれぞれアミノ酸から構成されるポリペプチド残基であり、CDR1Lは配列表の配列番号4で、CDR2Lは配列表の配列番号5で、CDR3Lは配列表の配列番号6でそれぞれ表され、ここでアミノ酸Cysは酸化状態において架橋を形成していることがある。）

【請求項2】 請求項1記載のポリペプチドをコードする塩基配列を有するDNA断片。

【請求項3】 下記一般式（3）及び一般式（4）より選択され、ヒトの高親和性IgE受容体の特異的に認識することができるものであることを特徴とするポリペプチド。

FR1-CDR1H-FR2-CDR2H-FR3-CDR3H-FR4…（3）

（上式中のFR1は29～36個の、FR2は10～16個の、FR3は32～35個の、FR4は12～14個のそれぞれアミノ酸から構成されるポリペプチド残基であり、CDR1Hは配列表の配列番号7で、CDR2Hは配列表の配列番号8で、CDR3Hは配列表の配列番号9でそれぞれ表され、ここでアミノ酸Cysは酸化状態において架橋を形成していることがある。）

FR5-CDR1L-FR6-CDR2L-FR7-CDR3L-FR8…（4）

（上式中のFR5は23～28個の、FR6は14～16個の、FR7は30～34個の、FR8は9～11個のそれぞれアミノ酸から構成されるポリペプチド残基であり、CDR1Lは配列表の配列番号10で、CDR2Lは配列表の配列番号11で、CDR3Lは配列表の配列番号12でそれぞれ表され、ここでアミノ酸Cysは酸化状態において架橋を形成していることがある。）

【請求項4】 請求項3記載のポリペプチドをコードする塩基配列を有するDNA断片。

【請求項5】 下記一般式（5）及び一般式（6）より

選択され、ヒトの高親和性IgE受容体の特異的に認識することができるものであることを特徴とするポリペプチド。

FR1-CDR1H-FR2-CDR2H-FR3-CDR3H-FR4…（5）

（上式中のFR1は29～36個の、FR2は10～16個の、FR3は32～35個の、FR4は12～14個のそれぞれアミノ酸から構成されるポリペプチド残基であり、CDR1Hは配列表の配列番号13で、CDR2Hは配列表の配列番号14で、CDR3Hは配列表の配列番号15でそれぞれ表され、ここでアミノ酸Cysは酸化状態において架橋を形成していることがある。）

FR5-CDR1L-FR6-CDR2L-FR7-CDR3L-FR8…（6）

（上式中のFR5は23～28個の、FR6は14～16個の、FR7は30～34個の、FR8は9～11個のそれぞれアミノ酸から構成されるポリペプチド残基であり、CDR1Lは配列表の配列番号16で、CDR2Lは配列表の配列番号17で、CDR3Lは配列表の配列番号18でそれぞれ表され、ここでアミノ酸Cysは酸化状態において架橋を形成していることがある。）

【請求項6】 請求項5記載のポリペプチドをコードする塩基配列を有するDNA断片。

【請求項7】 下記一般式（7）及び一般式（8）より選択され、ヒトの高親和性IgE受容体の特異的に認識することができるものであることを特徴とするポリペプチド。

FR1-CDR1H-FR2-CDR2H-FR3-CDR3H-FR4…（7）

（上式中のFR1は29～36個の、FR2は10～16個の、FR3は32～35個の、FR4は12～14個のそれぞれアミノ酸から構成されるポリペプチド残基であり、CDR1Hは配列表の配列番号19で、CDR2Hは配列表の配列番号20で、CDR3Hは配列表の配列番号21でそれぞれ表され、ここでアミノ酸Cysは酸化状態において架橋を形成していることがある。）

FR5-CDR1L-FR6-CDR2L-FR7-CDR3L-FR8…（8）

（上式中のFR5は23～28個の、FR6は14～16個の、FR7は30～34個の、FR8は9～11個のそれぞれアミノ酸から構成されるポリペプチド残基であり、CDR1Lは配列表の配列番号22で、CDR2Lは配列表の配列番号23で、CDR3Lは配列表の配列番号24でそれぞれ表され、ここでアミノ酸Cysは酸化状態において架橋を形成していることがある。）

【請求項8】 請求項7記載のポリペプチドをコードする塩基配列を有するDNA断片。

【請求項9】 下記一般式（9）及び一般式（10）より選択され、ヒトの高親和性IgE受容体の特異的に認識することができるものであることを特徴とするポリペ

ブチド。

FR1-CDR1H-FR2-CDR2H-FR3-CDR3H-FR4… (9)

(上式中のFR1は29～36個の、FR2は10～16個の、FR3は32～35個の、FR4は12～14個のそれぞれアミノ酸から構成されるポリペプチド残基であり、CDR1Hは配列表の配列番号25で、CDR2Hは配列表の配列番号26で、CDR3Hは配列表の配列番号27でそれぞれ表され、ここでアミノ酸Cysは酸化状態において架橋を形成していることがある。) FR5-CDR1L-FR6-CDR2L-FR7-CDR3L-FR8… (10)

(上式中のFR5は23～28個の、FR6は14～16個の、FR7は30～34個の、FR8は9～11個のそれぞれアミノ酸から構成されるポリペプチド残基であり、CDR1Lは配列表の配列番号28で、CDR2Lは配列表の配列番号29で、CDR3Lは配列表の配列番号30でそれぞれ表され、ここでアミノ酸Cysは酸化状態において架橋を形成していることがある。)

【請求項10】 請求項9記載のポリペプチドをコードする塩基配列を有するDNA断片。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、ヒトの高親和性IgE受容体(以下FcεRIと称することもある)を特異的に認識することができるアミノ酸配列を有するポリペプチド及びこれをコードする塩基配列を有するDNA断片に関する。

【0002】

【従来の技術、及び発明が解決しようとする課題】従来、I型アレルギーの治療には、ステロイドをはじめとした抗炎症剤が広く用いられているが、その非特異性故に副作用の問題があり、そのため、I型アレルギーの特異的な治療法が検討されている。

【0003】ここで、肥満細胞、好塩基球の細胞膜上に発現する高親和性IgE受容体(FcεRI)は、I型アレルギー反応効果相においてこれらの細胞の活性化の生化学的過程を始動させる鍵を握る糖蛋白分子である。FcεRIに結合した抗原特異的IgEが、対応する多価抗原(例えばスギ花粉症の患者ではスギ花粉、ダニアレルギー患者ではダニ抗原)によって架橋されると、このレセプター(FcεRI)は凝集し、シグナル伝達機構が作動し、肥満細胞は初めて活性化される。その結果、アレルギー性炎症を惹起する種々の化学伝達物質、すなわち予め細胞内顆粒に貯えられていたヒスタミンの放出をはじめとして、細胞膜代謝産物であるロイコトリエン、プロスタグランジンなどの新たな合成、放出が爆発的に誘導される。また、FcεRIからのシグナルは一方で核を経由して、アレルギー性炎症に直接、間接に関与するサイトカインの合成を誘導する。

【0004】従って、IgEによって媒介されるI型アレルギーの特異的な治療を考えると、I型アレルギー反応効果相を特異的に支配するFcεRIを標的にして、その反応の根幹を遮断するために、IgE-FcεRI結合を特異的に阻害する戦略はきわめて有望である。かかる見地から、IgE結合阻害剤の候補として、可溶性ヒトFcεRI、抗ヒトFcεRI抗体Fab断片、ヒトIgE定常領域(Fcε)、抗ヒトFcε抗体などが考慮され、それぞれ研究が進められている。

【0005】前述のように、抗ヒトFcεRIモノクローナル抗体は、I型アレルギーの特異的な治療薬として期待される。またそれだけでなく、診断薬、さらにはFcεRI発現細胞を標的としたミサイル療法など様々な応用が期待される。そこで、後述するように、まず本発明者らは、抗ヒトFcεRIモノクローナル抗体を産生するマウス・ハイブリドーマを樹立した。しかし、マウス等の異種抗体はヒトにとっては異物であり、ヒトに頻回投与することは投与抗体に対する免疫反応を惹起し、その結果、副作用並びに抗体の治療または予防効果の低下を引き起こす。以上の点から、実際に抗体をヒトに投与する臨床分野を考えると、ヒト型の抗体を用いることが望ましい。

【0006】ここで、抗体の特異性が可変領域の中でもCDRという特定の領域に限定されることは当分野ではよく知られていることで、ヒト型の抗体を作製する目的で、マウス等の異種抗体のCDRのアミノ酸配列を抗体遺伝子のクローニングにより明らかにした後、ヒト抗体の可変領域へ移植することが行われている。更に、このような抗体工学と呼ばれる研究分野ではこの他に、二種の異なった抗原特異性を有する双特異キメラ抗体、一本鎖抗体、及び抗体活性を持つ単一CDRに相当するオリゴペプチドなどの開発がなされつつある。

【0007】また、モノクローナル抗体産生細胞株は、一般に継代と共にその抗体産生能の低下することが知られており、この問題を解決するために抗体遺伝子をクローニングした後、遺伝子導入することによって大量発現させることなどが行われている。このように、遺伝子工学的手法による抗体の産生、更に、改良抗体の開発においては、その遺伝子の分離、更にアミノ酸配列を含めた構造の解明は重要であり、特に、CDRのDNA塩基、アミノ酸配列及びCDRをコードするDNA塩基配列の解明は極めて重要である。

【0008】本発明は、このような技術背景の下になされたものであり、その目的とするところは、抗ヒトFcεRIモノクローナル抗体の抗原認識領域、特にそのCDRのアミノ酸配列及びこれをコードするDNA塩基配列を解明し、治療や診断において有用な、ヒトFcεRIを特異的に認識することのできるアミノ酸配列を有するポリペプチド、及びこれをコードする塩基配列を有するDNA断片を提供することにある。

【0009】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、抗ヒトFcεRIモノクローナル抗体生産株について種々検討した結果、5株の抗ヒトFcεRIモノクローナル抗体生産株を得、更に該抗体のCDRを含む可変領域をコードするcDNAを分離し該DNA塩基配列を解明し、特にCDR領域のアミノ酸配列を特定することにより、上記目的が達成できることを見出し、本発明を完成するに至った。

【0010】従って、本発明のポリペプチドは、それぞれ、下記一般式(1)と(2)、(3)と(4)、

(5)と(6)、(7)と(8)、及び(9)と(10)との組み合わせより選択され、ヒトの高親和性IgE受容体の特異的に認識することができるものであることを特徴とする。

FR1-CDR1H-FR2-CDR2H-FR3-CDR3H-FR4…(1)

(上式中のFR1は29～36個の、FR2は10～16個の、FR3は32～35個の、FR4は12～14個のそれぞれアミノ酸から構成されるポリペプチド残基であり、CDR1Hは配列表の配列番号1で、CDR2Hは配列表の配列番号2で、CDR3Hは配列表の配列番号3でそれぞれ表され、ここでアミノ酸Cysは酸化状態において架橋を形成していることがある。)

FR5-CDR1L-FR6-CDR2L-FR7-CDR3L-FR8…(2)

(上式中のFR5は23～28個の、FR6は14～16個の、FR7は30～34個の、FR8は9～11個のそれぞれアミノ酸から構成されるポリペプチド残基であり、CDR1Lは配列表の配列番号4で、CDR2Lは配列表の配列番号5で、CDR3Lは配列表の配列番号6でそれぞれ表され、ここでアミノ酸Cysは酸化状態において架橋を形成していることがある。)

【0011】FR1-CDR1H-FR2-CDR2H-FR3-CDR3H-FR4…(3)

(上式中のFR1～FR4は上記と同じものであり、CDR1Hは配列表の配列番号7で、CDR2Hは配列表の配列番号8で、CDR3Hは配列表の配列番号9でそれぞれ表され、ここでアミノ酸Cysは酸化状態において架橋を形成していることがある。)

FR5-CDR1L-FR6-CDR2L-FR7-CDR3L-FR8…(4)

(上式中のFR5～FR8は上記と同じものであり、CDR1Lは配列表の配列番号10で、CDR2Lは配列表の配列番号11で、CDR3Lは配列表の配列番号12でそれぞれ表され、ここでアミノ酸Cysは酸化状態において架橋を形成していることがある。)

【0012】FR1-CDR1H-FR2-CDR2H-FR3-CDR3H-FR4…(5)

(上式中のFR1～FR4は上記と同じものであり、C

DR1Hは配列表の配列番号13で、CDR2Hは配列表の配列番号14で、CDR3Hは配列表の配列番号15でそれぞれ表され、ここでアミノ酸Cysは酸化状態において架橋を形成していることがある。)

FR5-CDR1L-FR6-CDR2L-FR7-CDR3L-FR8…(6)

(上式中のFR5～FR8は上記と同じものであり、CDR1Lは配列表の配列番号16で、CDR2Lは配列表の配列番号17で、CDR3Lは配列表の配列番号18でそれぞれ表され、ここでアミノ酸Cysは酸化状態において架橋を形成していることがある。)

【0013】FR1-CDR1H-FR2-CDR2H-FR3-CDR3H-FR4…(7)

(上式中のFR1～FR4は上記と同じものであり、CDR1Hは配列表の配列番号19で、CDR2Hは配列表の配列番号20で、CDR3Hは配列表の配列番号21でそれぞれ表され、ここでアミノ酸Cysは酸化状態において架橋を形成していることがある。)

FR5-CDR1L-FR6-CDR2L-FR7-CDR3L-FR8…(8)

(上式中のFR5～FR8は上記と同じものであり、CDR1Lは配列表の配列番号22で、CDR2Lは配列表の配列番号23で、CDR3Lは配列表の配列番号24でそれぞれ表され、ここでアミノ酸Cysは酸化状態において架橋を形成していることがある。)

【0014】FR1-CDR1H-FR2-CDR2H-FR3-CDR3H-FR4…(9)

(上式中のFR1～FR4は上記と同じものであり、CDR1Hは配列表の配列番号25で、CDR2Hは配列表の配列番号26で、CDR3Hは配列表の配列番号27でそれぞれ表され、ここでアミノ酸Cysは酸化状態において架橋を形成していることがある。)

FR5-CDR1L-FR6-CDR2L-FR7-CDR3L-FR8…(10)

(上式中のFR5～FR8は上記と同じものであり、CDR1Lは配列表の配列番号28で、CDR2Lは配列表の配列番号29で、CDR3Lは配列表の配列番号30でそれぞれ表され、ここでアミノ酸Cysは酸化状態において架橋を形成していることがある。)

【0015】また、本発明のDNA断片は、上記各ポリペプチドをコードする塩基配列を有することを特徴とする。

【0016】以下、本発明を詳細に説明する。本発明のポリペプチド及びDNA断片、並びにこれらに関連する抗ヒトFcεRIモノクローナル抗体生産株及びモノクローナル抗体は、下記の方法により得ることができる。即ち、まず、例えば、羅らの報告した方法(インターナショナル・イムノロジー(International Immunology)、第5巻、第47-54頁(1993))により調製した可溶性ヒトFcεRIα鎖を抗原として、抗ヒトF

c ϵ RIモノクローナル抗体生産株（ミエローマ細胞及び脾細胞より得られるハイブリドーマ）を得る。この生産株から、例えばバイオテクニクス（Bio Technique s）、第6巻、第114-116頁（1988）に記載の方法で、mRNAを調製することができる。

【0017】次いで、得られたmRNAを逆転写することによりcDNAを調製し、マウス抗体重（H）鎖可変領域あるいは軽（L）鎖可変領域のN末端をコードするプライマー及びC末端をコードするプライマーを用いて、PCR法（S. サイキ（S. Saiki）ら、サイエンス（Science）、第230巻、第1350-1354頁（1985））によりマウス抗体H鎖可変領域あるいはL鎖可変領域のcDNAを特異的に増幅することができる。例えば、ファルマシア社のscFv moduleキット等を利用してcDNAの合成及びPCR法によるマウス抗体H鎖可変領域遺伝子及びL鎖可変領域遺伝子の増幅を行うことができる。

【0018】しかる後、増幅されたDNAを、例えばアガロースゲル電気泳動した後、ゲルから切り出し、精製後、プランティングキット（宝酒造社）を用いて末端を平滑化し、例えばプラスミドベクターpUC119のSmaIサイトにサブクローニングし、ジデオキシ法によりシーケンシングすることによりその塩基配列を決定することができる。その塩基配列よりマウス抗体H鎖可変領域及びL鎖可変領域のアミノ酸配列を決定し、さらにCDR領域のアミノ酸配列を特定することができる。

【0019】本発明は、上述のようにして明らかにした下記①～⑤に示す5種類のマウス抗ヒトFc ϵ RIモノクローナル抗体のH鎖可変領域のCDR及びL鎖可変領域のCDRを含むポリペプチド、及び①～⑤に示すポリペプチドをコードするDNA塩基配列に関するものである。ここで、①に示したポリペプチドは、CRA1と命名されたハイブリドーマ細胞が産生するマウス抗ヒトFc ϵ RIモノクローナル抗体のH鎖可変領域のCDR及びL鎖可変領域のCDRを含むポリペプチドである。同様に、②～⑤に示したポリペプチドは、それぞれ、CRA2～CRA5と命名されたハイブリドーマ細胞が産生するマウス抗ヒトFc ϵ RIモノクローナル抗体のH鎖可変領域のCDR及びL鎖可変領域のCDRを含むポリペプチドである。

【0020】① 下記一般式（1）及び一般式（2）より選択され、ヒトの抗親和性IgE受容体の特異的に認識することができるものであることを特徴とするポリペプチド。

FR1-CDR1H-FR2-CDR2H-FR3-CDR3H-FR4...（1）

上式中において、FR1は29～36個の、FR2は10～16個の、FR3は32～35個の、FR4は12～14個のそれぞれアミノ酸から構成されるポリペプチド残基であり、CDR1Hは配列表の配列番号1で、C

DR2Hは配列表の配列番号2で、CDR3Hは配列表の配列番号3でそれぞれ表される。また、この場合、アミノ酸Cysは酸化状態において架橋を形成していることがある。そして、FRはフレームワークであり各FRは天然に存在するアミノ酸及び修飾されたアミノ酸で構成されていなければならないが、一般式（1）により選択されるポリペプチドとしては、配列表の配列番号31で示されるポリペプチドが最も好ましい。

FR5-CDR1L-FR6-CDR2L-FR7-CDR3L-FR8...（2）

上式中において、FR5は23～28個の、FR6は14～16個の、FR7は30～34個の、FR8は9～11個のそれぞれアミノ酸から構成されるポリペプチド残基であり、CDR1Lは配列表の配列番号4で、CDR2Lは配列表の配列番号5で、CDR3Lは配列表の配列番号6でそれぞれ表され、アミノ酸Cysは酸化状態において架橋を形成していることがある。FRはフレームワークであり各FRは天然に存在するアミノ酸及び修飾されたアミノ酸で構成されていなければならないが、一般式（2）により選択されるポリペプチドとしては、配列表の配列番号32で示されるポリペプチドが最も好ましい。

【0021】② 下記一般式（3）及び一般式（4）より選択され、ヒトの高親和性IgE受容体の特異的に認識することができるものであることを特徴とするポリペプチド。

FR1-CDR1H-FR2-CDR2H-FR3-CDR3H-FR4...（3）

上式中、FR1～FR4は上記と同じものであり、CDR1Hは配列表の配列番号7で、CDR2Hは配列表の配列番号8で、CDR3Hは配列表の配列番号9でそれぞれ表され、ここでアミノ酸Cysは酸化状態において架橋を形成していることがある。FRは上記の場合と同様であるが、一般式（3）により選択されるポリペプチドのうち最も好ましいのは、配列表の配列番号33で示されるポリペプチドである。

FR5-CDR1L-FR6-CDR2L-FR7-CDR3L-FR8...（4）

上式中、FR5～FR8は上記と同じものであり、CDR1Lは配列表の配列番号10で、CDR2Lは配列表の配列番号11で、CDR3Lは配列表の配列番号12でそれぞれ表され、ここでアミノ酸Cysは酸化状態において架橋を形成していることがある。FRは上記と同様であり、最も好ましい一般式（4）により選択されるポリペプチドは、配列表の配列番号34で示されるポリペプチドである。

【0022】③ 下記一般式（5）及び一般式（6）より選択され、ヒトの高親和性IgE受容体の特異的に認識することができるものであることを特徴とするポリペプチド。

FR1-CDR1H-FR2-CDR2H-FR3-CDR3H-FR4... (5)

上式中、FR1～FR4は上記と同じものであり、CDR1Hは配列表の配列番号13で、CDR2Hは配列表の配列番号14で、CDR3Hは配列表の配列番号15でそれぞれ表され、ここでアミノ酸Cysは酸化状態において架橋を形成していることがある。FRは上記と同様であり、最も好ましい一般式(5)により選択されるポリペプチドは、配列表の配列番号35で示されるポリペプチドである。

FR5-CDR1L-FR6-CDR2L-FR7-CDR3L-FR8... (6)

上式中、FR5～FR8は上記と同じものであり、CDR1Lは配列表の配列番号16で、CDR2Lは配列表の配列番号17で、CDR3Lは配列表の配列番号18でそれぞれ表され、ここでアミノ酸Cysは酸化状態において架橋を形成していることがある。FRは上記と同様であり、最も好ましい一般式(6)により選択されるポリペプチドは、配列表の配列番号36で示されるポリペプチドである。

【0023】④ 下記一般式(7)及び一般式(8)より選択され、ヒトの高親和性IgE受容体の特異的に認識することができるものであることを特徴とするポリペプチド。

FR1-CDR1H-FR2-CDR2H-FR3-CDR3H-FR4... (7)

上式中、FR1～FR4は上記と同じものであり、CDR1Hは配列表の配列番号19で、CDR2Hは配列表の配列番号20で、CDR3Hは配列表の配列番号21でそれぞれ表され、ここでアミノ酸Cysは酸化状態において架橋を形成していることがある。FRは上記と同様で、最も好ましい一般式(7)により選択されるポリペプチドは配列表の配列番号37で示されるポリペプチドである。

FR5-CDR1L-FR6-CDR2L-FR7-CDR3L-FR8... (8)

上式中、FR5～FR8は上記と同じものであり、CDR1Lは配列表の配列番号22で、CDR2Lは配列表の配列番号23で、CDR3Lは配列表の配列番号24でそれぞれ表され、ここでアミノ酸Cysは酸化状態において架橋を形成していることがある。FRは上記と同様で、最も好ましい一般式(8)により選択されるポリペプチドは配列表の配列番号38で示されるポリペプチドである。

【0024】⑤ 下記一般式(9)及び一般式(10)より選択され、ヒトの高親和性IgE受容体の特異的に認識することができるものであることを特徴とするポリペプチド。

FR1-CDR1H-FR2-CDR2H-FR3-CDR3H-FR4... (9)

上式中、FR1～FR4は上記と同じものであり、CDR1Hは配列表の配列番号25で、CDR2Hは配列表の配列番号26で、CDR3Hは配列表の配列番号27でそれぞれ表され、ここでアミノ酸Cysは酸化状態において架橋を形成していることがある。FRは上記と同様であり、最も好ましい一般式(9)により選択されるポリペプチドは、配列表の配列番号39で示されるポリペプチドである。

FR5-CDR1L-FR6-CDR2L-FR7-CDR3L-FR8... (10)

上式中、FR5～FR8は上記と同じものであり、CDR1Lは配列表の配列番号28で、CDR2Lは配列表の配列番号29で、CDR3Lは配列表の配列番号30でそれぞれ表され、ここでアミノ酸Cysは酸化状態において架橋を形成していることがある。FRは上記と同様で、最も好ましい一般式(10)により選択されるポリペプチドは、配列表の配列番号40で示されるポリペプチドである。

【0025】次に、本発明のポリペプチドをコードする塩基配列を有するDNA断片としては、本発明のポリペプチドをコードするDNA塩基配列を有するものであればどのような塩基配列でもよい。ここで、上記一般式

(1)で表されるポリペプチドをコードする一例の塩基配列を、配列表の配列番号41に示す。同様に、上記一般式(2)～(10)で表されるポリペプチドをコードする一例の塩基配列を、それぞれ配列表の配列番号42～50に示す。

【0026】本発明のポリペプチドをコードするDNAあるいは例えば部位特異的変異導入法等で改変した変異体DNAは、これに遺伝子工学的な手法を施すことにより、ベクター例えばpSV2型ベクターに組み込むことができ、次いで、発現細胞、例えばCHO細胞を形質転換し、該ポリペプチド誘導体を得ることができる。また、同様な手法で全遺伝子を決定し、本発明のポリペプチドを含む抗体を生産することもできる。

【0027】更に、本発明に係るポリペプチドの誘導体としては、ヒトFcεRIへの認識特異性を保有している断片、例えば、一価のFab断片、及び二価の(Fab')₂断片、マウス-ヒトキメラモノクローナル抗体、ヒト化抗体(CDR移植抗体)、一本鎖抗体、酵素、蛍光マーカー、金属キレート、細胞増殖抑制物質または細胞毒性物質、アビジン、ビオチン、抗炎症剤、抗アレルギー剤、免疫抑制剤等との接合体、並びに放射能ラベル化抗体等を例示でき、これらは、それぞれ公知の方法で調製し、目的に応じて使用することができる。

【0028】

【実施例】以下、本発明を実施例により、更に詳細かつ具体的に説明するが、本発明はこれら実施例になんら限定されるものではない。

(実施例1) 抗ヒトFcεRIモノクローナル抗体生産

株の取得

1) 培地

RPMI 1640 培地に、リシリン $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、ストレプトマイシン $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、グルタミン 2mM 、炭酸水素ナトリウム $1.6 \text{g}/\text{ml}$ を加えた後、二酸化炭素を吹き込み、 $\text{pH} 7.2$ 前後とし牛胎児血清 (FCS) を 10% になるように加えて使用した。

【0029】2) ミエローマ細胞株

Balb/c マウス由来の骨髓細胞 MOP-PC-21 の株化細胞 δ アザグアニン耐性の P3-X63-Ag- δ U (P3U1) を用いた。

【0030】3) 抗原感作

羅らの報告した方法 (インターナショナル・イムノロジー (International Immunology)、第5巻、第47-54頁 (1993)) により調製した可溶性ヒトFc ϵ RI α 鎖を、フロイント完全アジュバンドと混合した抗原をBalb/c マウスに一匹あたり $0.25 \text{mg}/0.5 \text{ml}$ ずつ腹腔に接種し、一次感作した。5週間後、更に上記抗原を $0.5 \text{mg}/0.5 \text{ml}$ ずつ尾静脈に接種し、二次感作した。その4日後の脾臓細胞を上記ミエローマ細胞株と下記4) のようにして細胞融合させた。

【0031】4) 細胞融合法

ミエローマ細胞、脾細胞共に食塩リン酸緩衝液 (PBS: 10mM リン酸緩衝液 $\text{pH} 7.5$ 、 0.9% 食塩) で3回洗浄後、RPMI 1640、 10% FCS に浮遊し細胞数を算定した。 1×10^6 個のP3U1に対して $7.5 \sim 10 \times 10^8$ 個の脾細胞を2~3週間培養した。次に、RPMI 1640 で遠心洗浄してFCSを除き、ガラススピッツ遠心管に細胞を集める。上清を完全に取り去った後、ペレット状の細胞をほぐし、予め 37°C に温めておいたポリエチレングリコール液 (PEG) を 0.5ml 加え、室温で1分間反応させた後、 37°C のRPMI 1640 (1ml) を30秒毎に10回加えた。その間、試験管をゆっくり回転し続ける。こうして細胞融合した細胞を遠心洗浄し、P3U1細胞数が、 $5 \sim 10 \times 10^5$ 個/ ml になるようにRPMI 1640、 10% FCS を加える。その 0.2ml をマイクロタイタープレートに分注した。24時間培養して上清を半量捨て、HAT (ヒポキサンチン、アミノプテリン及びチミジンを含む) 培地を加える。以後、この操作を48時間毎に2週間繰り返す。ミエローマ細胞及び脾細胞共にHAT培地中では増殖できないので、増殖してくる細胞はハイブリドーマと考えられる。従って、10~14日後、増殖してきたハイブリドーマの認められる培養液について抗体活性を調べた。

【0032】5) 抗体活性のスクリーニング

抗体活性のスクリーニングは次に示すようなエンザイムイムノアッセイによった。

① PBS に溶解した抗原 ($1 \text{mg}/\text{ml}$) を $50 \mu\text{l}$ とし、マイクロタイタープレート (96穴、Falcon

n3129) に吸着させた (4°C 、一晚)。

② 抗原溶液を除き、 0.05% Tween 20 を含んだPBS (PBST) により4回洗浄した後、 5% 牛アルブミン (BSA) を含んだPBSを $100 \mu\text{l}$ 加え 37°C 1時間放置した。

③ BSA 溶液を除いた後、PBST により4回洗浄する。次に、ハイブリドーマの培養上清を $50 \mu\text{l}$ 加え、2時間反応させた。

④ PBST で4回洗浄した後、 1% BSA を含むPBS で 1000 倍に希釈したペルオキシダーゼ結合抗マウスIgG抗体を $50 \mu\text{l}$ 加え、 37°C で2時間反応させた。

⑤ PBST により4回洗浄した後、 0.5M クエン酸 1.22ml 、 0.5M リン酸二ナトリウム 2.56ml 、オルトフェニレンジアミン 10mg 、 30% 過酸化水素水 $10 \mu\text{l}/25 \text{ml}$ を $50 \mu\text{l}$ 加え発色させた。十分発色させた後、 2M 硫酸を $50 \mu\text{l}$ 加え発色を停止させる。

⑥ 発色はイムノリーダーにより光学的に測定した。

⑦ 抗原に特異的な抗体を産生している細胞のうち5株を分離し、クローニング操作を重ね、抗ヒトFc ϵ RIモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマ細胞株5株を樹立した。それぞれCRA1、CRA2、CRA3、CRA4、そしてCRA5と命名した。

【0033】6) ヒトIgE結合阻害実験

樹立したハイブリドーマ細胞株5株が産生する抗ヒトFc ϵ RIモノクローナル抗体が、ヒトIgEのヒトFc ϵ RIへの結合を阻害するかどうかを競争阻害実験により確認した。ヒトFc ϵ RI α 鎖をマイクロタイタープレートに吸着させておき、そこにヨウ素125で標識したヒトIgEと、標識していないモノクローナル抗体あるいはヒトIgEを同時に加えた。反応後、洗浄し、マイクロタイタープレートに固定化したヒトFc ϵ RI α 鎖に結合したヨウ素125標識ヒトIgEの放射能をシンチレーションカウンターで測定した。ここで、標識していないモノクローナル抗体あるいはヒトIgEの量は変化させてあり、放射能がヨウ素125で標識したヒトIgEのみを反応させた際の 50% になるときの、標識していないモノクローナル抗体あるいはヒトIgEの量を、 IC_{50} とした。得られた結果を表1に示した。

【0034】CRA2、CRA3、及びCRA4由来のモノクローナル抗体は、その IC_{50} の値がヒトIgEで阻害したときよりも小さく、それぞれのIgE結合阻害剤としての有効性が確認された。一方、 IC_{50} の値の大きいCRA1及びCRA5はIgE結合阻害剤としては有効ではないと推定することもできるが、ヒトFc ϵ RIへの特異的な結合能を有する故、CRA2、CRA3、及びCRA4と同様、診断及びミサイル療法などIgE結合阻害が必ずしも要求されない場合に十分有効である。

inhibitor	human IgE	CRA1	CRA2	CRA3	CRA4	CRA5
IC ₅₀ (μ g/ml)	1.2	> 200	0.2	0.5	0.1	37

【0036】（実施例2） 抗ヒトFc ϵ RIモノクローナル抗体遺伝子の取得及び解析

1) mRNAの調製

上記ハイブリドーマ細胞約 5×10^7 個の細胞より、J. E. バッドレイ (J.E.Badley)らの方法 (バイオテクニクス(Bio Techniques)、第6巻、第114-116頁(1988))に従い、ポリAを有するRNAを下記の如く精製した。該ハイブリドーマ細胞をPBS 30mlで遠心洗浄し、10mlのリシス・バッファ (200mM NaCl、200mM TrisCl pH7.5、0.15mM MgCl₂、2% SDS、0.2mg/ml プロテイナーゼK) に懸濁させた。この懸濁液を18Gの注射針に5回、21Gの注射針に1回通して細胞を破碎した後、45℃の水浴上で緩徐に揺動させながら2時間放置した。この間にオリゴdTセルロース担体 (コラボレイティブ・リサーチ社) 0.1gを10mlのエルーション・バッファ (10mM TrisCl pH7.5) で一回、10mlのバインディング・バッファ (10mM TrisCl pH7.5、500mM NaCl) で3回、遠心洗浄した。このオリゴdTセルロース担体に先の細胞抽出液及び600 μ lの5M-NaClを加え、室温で20分間穏やかに撹拌した。続いて10mlのバインディング・バッファで5回、遠心洗浄した後、カラムに充填した。カラムに計3mlのエルーション・バッファを少量ずつ加え、溶出液を10滴ずつ分画した。各画分の一部をとり、エチジウム・ブロマイドを添加後、UV照射し、よく光る画分を回収した。回収画分をエタノール沈澱し、25 μ lの滅菌水に再溶解させた。

【0037】2) 相補鎖DNA (cDNA) の合成及びPCR法によるクローニング

1) で精製したmRNAを鋳型として、ファルマシア社のscFv moduleキットを利用してcDNAの合成及びPCR法によりマウス抗体H鎖可変領域あるいはL鎖可変領域のcDNAを特異的に増幅した。アガロースゲル電気泳動により、約350塩基対のH鎖可変領域のcDNA、あるいは約325塩基対のL鎖可変領域のcDNAが特異的に増幅していることを確認した。

【0038】3) 塩基配列の決定

増幅されたDNAを1%アガロースゲル電気泳動後、ゲルから切り出し、マーメイド (BIO101社) を用いて精製した後、ブランディングキット (宝酒造社) を用いて末端を平滑化した。このDNA断片をプラスミドベクターpUC119のSma Iサイトにサブクローニングし、ジデオキシ法によりシーケンシングすることによりその塩基配列を決定した。このようにして配列表の配

列番号41~50で示した塩基配列を決定した。配列表の配列番号41、43、45、47及び49に、それぞれハイブリドーマ細胞株CRA1、CRA2、CRA3、CRA4及びCRA5からクローニングしたH鎖可変領域のcDNAの塩基配列を示した。配列表の配列番号42、44、46、48及び50に、それぞれハイブリドーマ細胞株CRA1、CRA2、CRA3、CRA4及びCRA5からクローニングしたL鎖可変領域のcDNAの塩基配列を示した。

【0039】4) 超可変領域の決定

3) で決定した塩基配列よりマウス抗体H鎖可変領域及びL鎖可変領域のアミノ酸配列を決定し、更にCDR領域のアミノ酸配列を特定した。配列表の配列番号31、33、35、37、及び39に、それぞれハイブリドーマ細胞株CRA1、CRA2、CRA3、CRA4及びCRA5からクローニングしたH鎖可変領域のcDNAの塩基配列より決定したアミノ酸配列を示した。配列表の配列番号32、34、36、38、及び40に、それぞれハイブリドーマ細胞株CRA1、CRA2、CRA3、CRA4及びCRA5からクローニングしたL鎖可変領域のcDNAの塩基配列より決定したアミノ酸配列を示した。なお、CDR領域のアミノ酸配列を、それぞれ配列表に説明した。

【0040】

【発明の効果】以上説明したように、本発明によれば、抗ヒトFc ϵ RIモノクローナル抗体の抗原認識領域、特にそのCDRを解明し、治療や診断において有用な、ヒトFc ϵ RIを特異的に認識することのできるアミノ酸配列を有するポリペプチド、及びこれをコードする塩基配列を有するDNA断片を提供することができる。即ち、本発明により、ヒトFc ϵ RIを認識するモノクローナル抗体の抗原認識部位が特定され、該認識部位を含むポリペプチドの遺伝子工学的製造手段が提供された。

【0041】

【配列表】配列番号：1

配列の長さ：5

配列の型：アミノ酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

起源 細胞の種類：マウスハイブリドーマ細胞CRA1

配列

Asn Tyr Gly Met Ser

【0042】配列番号：2

5

配列の長さ：17
配列の型：アミノ酸
鎖の数：一本鎖

配列

Thr Ile Ser Gly Asp Gly Ser Tyr Thr Phe Tyr Pro Asp Ser Val
1 5 10 15
Lys Gly

【0043】配列番号：3

配列の長さ：9
配列の型：アミノ酸
鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

起源 細胞の種類：マウスハイブリドーマ細胞CRA1

配列

Leu Phe Tyr Arg Ser Ser Phe Pro Phe

【0044】配列番号：4⁵

配列の長さ：11
配列の型：アミノ酸
鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

起源 細胞の種類：マウスハイブリドーマ細胞CRA1

配列

Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Ser Tyr Leu Ser

【0045】配列番号：5¹⁰

配列の長さ：7
配列の型：アミノ酸
鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

起源 細胞の種類：マウスハイブリドーマ細胞CRA1

配列

Arg Ala Lys Arg Leu Val Asp

【0046】配列番号：6⁵

配列の長さ：9
配列の型：アミノ酸

配列

Phe Ile Ser Asn Arg Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val
1 5 10 15
Lys Gly

【0049】配列番号：9

配列の長さ：8
配列の型：アミノ酸
鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

起源 細胞の種類：マウスハイブリドーマ細胞CRA1

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

起源 細胞の種類：マウスハイブリドーマ細胞CRA1

配列

Leu Gln Tyr Asp Glu Phe Pro Leu Thr

【0047】配列番号：7⁵

配列の長さ：5
配列の型：アミノ酸
鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

起源 細胞の種類：マウスハイブリドーマ細胞CRA2

配列

Thr Tyr Pro Met Ser

【0048】配列番号：8⁵

配列の長さ：17
配列の型：アミノ酸
鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

起源 細胞の種類：マウスハイブリドーマ細胞CRA2

起源 細胞の種類：マウスハイブリドーマ細胞CRA2

配列

His Asn Tyr Gly Gly Met Asp Tyr

【0050】配列番号：10⁵

配列の長さ：15

配列の型：アミノ酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列

Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr Gly Asn Ser Phe Met His

1

5

10

15

【0051】配列番号：11

配列の長さ：7

配列の型：アミノ酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

起源 細胞の種類：マウスハイブリドーマ細胞CRA2

配列の種類：ペプチド

起源 細胞の種類：マウスハイブリドーマ細胞CRA2

配列

Thr Tyr Pro Met Ser

1

5

【0054】配列番号：14

配列の長さ：17

配列の型：アミノ酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

起源 細胞の種類：マウスハイブリドーマ細胞CRA3

配列

Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser

1

5

【0052】配列番号：12

配列の長さ：9

配列の型：アミノ酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

起源 細胞の種類：マウスハイブリドーマ細胞CRA2

配列

Gln Gln Asn Asn Glu Asp Pro Tyr Thr

【0053】配列番号：15

配列の長さ：5

配列

Tyr Ile Ser Asn Arg Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Ile

1

5

10

15

Met Gly

【0055】配列番号：15

配列の長さ：8

配列の型：アミノ酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

起源 細胞の種類：マウスハイブリドーマ細胞CRA3

配列の長さ：15

配列の型：アミノ酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

起源 細胞の種類：マウスハイブリドーマ細胞CRA3

配列

His Asn Tyr Gly Gly Met Asp Tyr

【0056】配列番号：16

配列

Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr Gly Asn Ser Phe Met His

1

5

10

15

【0057】配列番号：17

配列の長さ：7

配列の型：アミノ酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

起源 細胞の種類：マウスハイブリドーマ細胞CRA3

配列

Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser

【0058】配列番号: 18¹ 5

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

鎖の数: 一本鎖

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源 細胞の種類: マウスハイブリドーマ細胞CRA3

配列

Gln Gln Asn Asn Glu Asp Pro Tyr Thr

【0059】配列番号: 19¹ 5

配列の長さ: 5

配列の型: アミノ酸

鎖の数: 一本鎖

配列

Trp Ile Tyr Pro Lys Asn Val Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Arg Phe

1 5 10 15

Lys Gly

【0061】配列番号: 21

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

鎖の数: 一本鎖

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源 細胞の種類: マウスハイブリドーマ細胞CRA4

配列

Thr Ala Arg Ala Thr Ala Met Asp Tyr

【0062】配列番号: 22¹ 5

配列の長さ: 11

配列の型: アミノ酸

鎖の数: 一本鎖

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源 細胞の種類: マウスハイブリドーマ細胞CRA4

配列

Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Asn Leu Ala

【0063】配列番号: 23¹ 10

配列の長さ: 7

配列の型: アミノ酸

鎖の数: 一本鎖

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源 細胞の種類: マウスハイブリドーマ細胞CRA4

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源 細胞の種類: マウスハイブリドーマ細胞CRA4

配列

Ser Tyr Tyr Ile His

【0060】配列番号: 20¹ 5

配列の長さ: 17

配列の型: アミノ酸

鎖の数: 一本鎖

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源 細胞の種類: マウスハイブリドーマ細胞CRA4

配列

Ala Ala Thr Asn Leu Ala Asp

【0064】配列番号: 24¹ 5

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

鎖の数: 一本鎖

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源 細胞の種類: マウスハイブリドーマ細胞CRA4

配列

Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Trp Thr

【0065】配列番号: 25¹ 5

配列の長さ: 5

配列の型: アミノ酸

鎖の数: 一本鎖

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源 細胞の種類: マウスハイブリドーマ細胞CRA5

配列

Asp Tyr Tyr Met Phe

【0066】配列番号: 26¹ 5

配列の長さ: 17

配列の型: アミノ酸

鎖の数: 一本鎖

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源 細胞の種類：マウスハイブリドーマ細胞CRA5

配列

Tyr Ile Ser Asp Gly Asp Ile Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val
1 5 10 15
Lys Gly

【0067】配列番号：27

配列の長さ：11

配列の型：アミノ酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

起源 細胞の種類：マウスハイブリドーマ細胞CRA5

配列

Gly Asn Tyr Arg Tyr Gly Tyr Ala Val Asp Tyr

【0068】配列番号⁵：28

10

配列の長さ：12

配列の型：アミノ酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖

配列の種類：ペプチド

起源 細胞の種類：マウスハイブリドーマ細胞CRA5

配列

Ser Ala Ser Ser Ser Ile Ser Ser Asn Tyr Leu His

【0069】配列番号⁵：29

10

配列の長さ：7

配列の型：アミノ酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖

配列の種類：ペプチド

起源 細胞の種類：マウスハイブリドーマ細胞CRA5

配列

Gln Val Lys Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly
1 5 10 15
Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Val Ala Ser Glu Phe Thr Phe Ser
20 25 30
Asn Tyr Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu
35 40 45
Glu Trp Val Ala Thr Ile Ser Gly Asp Gly Ser Tyr Thr Phe Tyr
50 55 60
Pro Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
65 70 75
Lys Asn Asn Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp
80 85 90
Thr Ala Leu Tyr Phe Cys Ile Ser Leu Phe Tyr Arg Ser Ser Phe
95 100 105
Pro Phe Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
110 115

【0072】配列番号：32

配列

Arg Thr Ser Asn Leu Ala Ser

【0070】配列番号¹：30⁵

配列の長さ：9

配列の型：アミノ酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖

配列の種類：ペプチド

起源 細胞の種類：マウスハイブリドーマ細胞CRA5

配列

Gln Gln Gly Ser Ser Ile Pro Leu Thr

【0071】配列番号¹：31⁵

配列の長さ：118

配列の型：アミノ酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

起源 細胞の種類：マウスハイブリドーマ細胞CRA1

配列の特徴 31-35 S CDR領域

50-66 S CDR領域

99-107 S CDR領域

配列の型：アミノ酸
鎖の数：一本鎖
トポロジー：直鎖状
配列の種類：ペプチド

起源 細胞の種類：マウスハイブリドーマ細胞CRA1
配列の特徴 21-31 S CDR領域
47-53 S CDR領域
86-94 S CDR領域

配列
Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Met Tyr Ala Ser Leu Gly Glu Arg
1 5 10 15
Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Ser Tyr Leu
20 25 30
Ser Trp Phe His Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Thr Leu Ile
35 40 45
Tyr Arg Ala Lys Arg Leu Val Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Gln Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu
65 70 75
Glu Tyr Glu Asp Met Gly Ile Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Glu
80 85 90
Phe Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
95 100

【0073】配列番号：33

配列の長さ：117

配列の型：アミノ酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

起源 細胞の種類：マウスハイブリドーマ細胞CRA2

配列の特徴 31-35 S CDR領域

50-66 S CDR領域

98-106 S CDR領域

配列
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
1 5 10 15
Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser
20 25 30
Thr Tyr Pro Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu
35 40 45
Glu Trp Val Ala Phe Ile Ser Asn Arg Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr
50 55 60
Pro Asp Thr Val Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ala
65 70 75
Lys Asn Ile Leu Tyr Leu Gln Met Thr Ser Leu Lys Ser Glu Asp
80 85 90
Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg His Asn Tyr Gly Gly Met Asp
95 100 105
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
110 115

【0074】配列番号：34

配列の長さ：112

配列の型：アミノ酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

起源 細胞の種類：マウスハイブリドーマ細胞CRA2

配列の特徴 24-38 S CDR領域

54-60 S CDR領域

92-101 S CDR領域

配列
Asp Ile Gln Met Pro Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu
1 5 10 15
Gly Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp

	20	25	30
Ser Tyr Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly			
	35	40	45
Gln Ser Pro Lys Leu Leu Met Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser			
	50	55	60
Gly Val Pro Ala Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe			
	65	70	75
Thr Leu Thr Ile Asp Pro Val Glu Ala Asp Asp Ala Ala Thr Tyr			
	80	85	90
Tyr Cys Gln Gln Asn Asn Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly			
	95	100	105
Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg			
	110		

【0075】配列番号：35

配列の長さ：117

配列の型：アミノ酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

起源 細胞の種類：マウスハイブリドーマ細胞CRA3

配列の特徴 31-35 S CDR領域

50-66 S CDR領域

99-106 S CDR領域

配列

Gln Val Lys Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly			
1	5	10	15
Gly Ser Leu Lys Val Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser			
	20	25	30
Thr Tyr Pro Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu			
	35	40	45
Glu Trp Val Ala Tyr Ile Ser Asn Arg Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr			
	50	55	60
Pro Asp Thr Ile Met Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala			
	65	70	75
Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ser Glu Asp			
	80	85	90
Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg His Asn Tyr Gly Gly Met Asp			
	95	100	105
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser			
	110	115	

【0076】配列番号：36

配列の長さ：112

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

起源 細胞の種類：マウスハイブリドーマ細胞CRA3

配列の特徴 24-38 S CDR領域

54-60 S CDR領域

93-101 S CDR領域

配列

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu			
1	5	10	15
Gly Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp			
	20	25	30
Ser Tyr Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly			
	35	40	45
Gln Pro Pro Lys Leu Leu Met Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser			
	50	55	60
Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr His Phe			

65	70	75
Thr Leu Thr Ile Asp Pro Val Glu Ala Asp Asp Ala Ala Thr Tyr		
80	85	90
Tyr Cys Gln Gln Asn Asn Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly		
95	100	105
Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg		
110		

【0077】配列番号：37

配列の長さ：118

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

起源 細胞の種類：マウスハイブリドーマ細胞CRA4

配列の特徴 31-35 S CDR領域

50-66 S CDR領域

99-107 S CDR領域

配列

Gln Val Lys Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly		
1	5	10
Ala Ser Val Arg Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr		
20	25	30
Ser Tyr Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu		
35	40	45
Glu Trp Ile Gly Trp Ile Tyr Pro Lys Asn Val Asn Thr Lys Tyr		
50	55	60
Asn Glu Arg Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Thr Asp Lys Ser		
65	70	75
Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp		
80	85	90
Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Leu Thr Ala Arg Ala Thr Ala Met		
95	100	105
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser		
110	115	

【0078】配列番号：38

配列の長さ：108

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

起源 細胞の種類：マウスハイブリドーマ細胞CRA4

配列の特徴 24-34 S CDR領域

50-56 S CDR領域

89-97 S CDR領域

配列

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Val Ser Val		
1	5	10
Gly Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr		
20	25	30
Ser Asn Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln		
35	40	45
Leu Leu Val Tyr Ala Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser		
50	55	60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile		
65	70	75
Asn Ser Leu Gln Ser Glu Asp Phe Gly Ser Tyr Tyr Cys Gln His		
80	85	90
Phe Trp Gly Thr Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu		
95	100	105
Ile Lys Arg		

【0079】配列番号：39

配列の長さ：118

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

起源 細胞の種類：マウスハイブリドーマ細胞CRA5

配列の特徴 29-33 S CDR領域

48-64 S CDR領域

97-107 S CDR領域

配列

```
Gln Val Lys Leu Gln Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
  1             5             10             15
Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Thr Ser Gly Phe Thr Asp Tyr
             20             25             30
Tyr Met Phe Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Lys Leu Glu Trp
             35             40             45
Val Ala Tyr Ile Ser Asp Gly Asp Ile Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp
             50             55             60
Thr Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
             65             70             75
Thr Leu Tyr Leu Gln Met Ser Arg Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala
             80             85             90
Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Tyr Arg Tyr Gly Tyr Ala Val
             95            100            105
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
            110            115
```

【0080】配列番号：40

配列の長さ：109

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

起源 細胞の種類：マウスハイブリドーマ細胞CRA5

配列の特徴 24-35 S CDR領域

51-57 S CDR領域

90-98 S CDR領域

配列

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Thr
Thr Met Ala Ala Ser Pro
  1             5
10             15
Gly Glu Lys Ile Thr Ile Thr Cys Ser
Ala Ser Ser Ser Ile Ser
             20
25             30
Ser Asn Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln
Lys Pro Gly Phe Ser Pro
             35
40             45
Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Thr Ser Asn
Leu Ala Ser Gly Val Pro
             50
55             60
Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
Thr Ser Tyr Ser Leu Thr
             65
70             75
Ile Gly Thr Met Glu Ala Glu Asp Val
Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln
```

85					90			
Gln	Gly	Ser	Ser	Ile	Pro	Leu	Thr	Phe
Gly	Ala	Gly	Thr	Lys	Leu			
				95				
100					105			
Glu	Leu	Lys	Arg					

CAG GTG AAG CTG CAG GAG TCT GGG GGA GGC TTG GTG AAG CCT GGA	45
GGG TCC CTA AAA CTC TCC TGT GTA GCC TCT GAA TTC ACT TTC AGT	90
AAT TAT GGC ATG TCT TGG GTT CGC CAG ACT CCG GAG AAG AGG CTG	135
GAG TGG GTC GCC ACC ATT AGT GGT GAT GGT AGT TAC ACC TTT TAT	180
CCA GAC AGT GTG AAG GGG CGA TTC ACC ATC TCC AGA GAC AAT GCC	225
AAG AAC AAC CTG TAC CTG CAA ATG AGC AGT CTG AGG TCT GAG GAC	270
ACG GCC TTG TAT TTT TGT ATA AGC CTC TTC TAT AGG TCC TCG TTT	315
CCT TTC TGG GGC CAA GGG ACC ACG GTC ACC GTC TCC TCA	354

ATG	ACG	CAG	TCT	CCA	TCT	TCC	ATG	TAT	GCA	TCT	CTA	GGA	GAG	AGA	45
GTC	ACT	ATC	ACT	TGC	AAG	GCG	AGT	CAG	GAC	ATT	AAT	AGC	TAT	TTA	90
AGT	TGG	TTC	CAC	CAG	AAA	CCA	GGG	AAA	TCT	CCT	AAG	ACC	CTG	ATC	135
TAT	CGT	GCA	AAG	AGA	TTG	GTA	GAT	GGG	GTC	CCA	TCA	AGG	TTC	AGT	180
GGC	AGT	GGA	TCT	GGG	CAA	GAT	TAT	TCT	CTC	ACC	ATC	AGC	AGC	CTG	225
GAA	TAT	GAA	GAT	ATG	GGA	ATT	TAT	TAT	TGT	CTA	CAG	TAT	GAT	GAA	270
TTT	CCG	CTC	ACG	TTC	GGT	GCT	GGG	ACC	AAG	CTG	GAA	ATA	AAA		312

CAG	GTG	CAG	CTG	CAG	GAG	TCA	GGG	GGA	GGT	TTA	GTG	CAG	CCT	GGA	45
GGG	TCC	CTG	AAA	CTC	TCC	TGT	ACA	GCC	TCT	GGA	TTC	ACT	TTC	AGC	90
ACC	TAT	CCC	ATG	TCT	TGG	GTT	CGC	CAG	ACT	CCA	GAG	AAG	AGG	CTG	135
GAG	TGG	GTC	GCA	TTC	ATT	AGT	AAT	CGT	GGT	GGT	AGC	ACC	TAC	TAT	180
CCA	GAC	ACT	GTA	AAG	GGC	CGA	TTC	ACC	GTC	TCC	AGA	GAC	AAT	GCC	225
AAG	AAT	ATC	CTG	TAT	CTG	CAA	ATG	ACC	AGT	CTG	AAG	TCT	GAG	GAC	270
ACG	GCC	ATG	TAT	TAC	TGT	GCA	AGA	CAT	AAT	TAT	GGA	GGA	ATG	GAC	315
TAC	TGG	GGC	CAA	GGG	ACC	ACG	GTC	ACC	GTC	TCC	TCA				351

-17-

GAC ATC CAG ATG CCC CAG TCT CCA GCT TCT TTG GCT GTG TCT CTA	45
GGG CAG AGG GCC ACC ATA TCC TGC AGA GCC AGT GAA AGT GTT GAT	90
AGT TAT GGC AAC AGT TTT ATG CAC TGG TAC CAG CAG AAA CCA GGA	135
CAG TCA CCC AAA CTC CTC ATG TAT CTT GCA TCC AAC CTA GAA TCT	180
GGG GTC CCT GCC AGG TTC ACT GGC AGT GGG TCT AGG ACA GAC TTC	225
ACC CTC ACC ATT GAT CCT GTG GAG GCT GAT GAT GCT GCA ACC TAT	270
TAC TGT CAG CAA AAT AAT GAG GAT CCG TAC ACG TTC GGA GGG GGG	315
ACC AAG CTG GAA ATC AAA CGG	336

【0085】配列番号：45

トポロジー：直鎖状

配列の長さ：351

配列の種類：cDNA to mRNA

配列の型：核酸

起源 細胞の種類：マウスハイブリドーマ細胞CRA3

鎖の数：二本鎖

配列

CAG GTG AAG CTG CAG GAG TCA GGG GGA GGT TTA GTG CAG CCT GGA	45
GGG TCC CTG AAA GTC TCC TGT ACA GCC TCT GGA TTC ACT TTC AGT	90
ACC TAT CCC ATG TCC TGG GTT CGC CAG ACT CCA GAG AAG AGG CTG	135
GAG TGG GTC GCA TAC ATA AGT AAT CGT GGT GGT AGC ACC TAC TAT	180
CCA GAC ACT ATA ATG GGC CGA TTC ACC ATC TCC AGA GAC AAT GCC	225
AAG AAC ACC CTG TAC CTA CAA ATG AAC AGT CTG AAG TCT GAG GAC	270
ACG GCC ATG TAT TAC TGT GCA AGA CAT AAC TAT GGA GGG ATG GAC	315
TAC TGG GGC CAA GGG ACC ACG GTC ACC GTC TCC TCA	351

【0086】配列番号：46

トポロジー：直鎖状

配列の長さ：336

配列の種類：cDNA to mRNA

配列の型：核酸

起源 細胞の種類：マウスハイブリドーマ細胞CRA3

鎖の数：二本鎖

配列

GAC ATC CAG ATG ACG CAG TCT CCA GCT TCT TTG GCT GTG TCT CTA	45
GGG CAG AGG GCC ACC ATA TCC TGC AGA GCC AGT GAA AGT GTT GAT	90
AGT TAT GGC AAT AGT TTT ATG CAC TGG TAC CAG CAG AAA CCA GGA	135
CAG CCA CCC AAA CTC CTC ATG TAT CTT GCA TCC AAC CTA GAA TCT	180
GGG GTC CCT GCC AGG TTC AGT GGC AGT GGG TCT AGG ACA CAC TTC	225
ACC CTC ACC ATT GAT CCT GTG GAG GCT GAT GAT GCT GCA ACC TAT	270
TAC TGT CAG CAA AAT AAT GAG GAT CCG TAC ACG TTC GGA GGG GGG	315
ACC AAG CTG GAA ATC AAA CGG	336

【0087】配列番号：47

トポロジー：直鎖状

配列の長さ：354

配列の種類：cDNA to mRNA

配列の型：核酸

起源 細胞の種類：マウスハイブリドーマ細胞CRA4

鎖の数：二本鎖

配列

CAG GTG AAA CTG CAG CAG TCA GGA CCT GAG CTG GTG AAG CCT GGG	45
GCT TCA GTG AGG ATA TCC TGC AAG GCT TCT GGC TAC ACC TTC ACA	90
AGC TAC TAT ATA CAC TGG GTG AAG CAG AGG CCT GGA CAG GGA CTT	135
GAG TGG ATT GGA TGG ATT TAT CCT AAA AAT GTT AAT ACT AAG TAC	180
AAT GAG AGG TTC AAG GGC AAG GCC ACA CTG ACT ACA GAC AAA TCC	225
TCC AGC ACA GCC TAC ATG CAG CTC AGC AGC CTG ACC TCT GAG GAC	270
TCT GCG GTC TAT TTC TGT GCG CTT ACA GCT CGG GCT ACG GCT ATG	315
GAC TAC TGG GGC CAA GGG ACC ACG GTC ACC GTC TCC TCA	354

【0088】配列番号：48

鎖の数：二本鎖

配列の長さ：324

トポロジー：直鎖状

配列の型：核酸

配列の種類：cDNA to mRNA

起源 細胞の種類：マウスハイブリドーマ細胞CRA4

配列

```
GAC ATC CAG ATG ACT CAG TCT CCA GCC TCC CTA TCT GTA TCT GTG 45
GGA GAA ACT GTC ACC ATC ACA TGT CGA GCA AGT GAG AAT ATT TAC 90
AGT AAT TTA GCA TGG TAT CAG CAG AAA CAG GGA AAA TCT CCT CAG 135
CTC CTG GTC TAT GCT GCA ACA AAC TTA GCA GAT GGT GTG CCA TCA 180
AGG TTC AGT GGC AGT GGA TCA GGC ACA CAG TAT TCC CTC AAG ATC 225
AAC AGC CTG CAG TCT GAA GAT TTT GGG AGT TAT TAC TGT CAA CAT 270
TTT TGG GGT ACT CCG TGG ACG TTC GGT GGA GGC ACC AAG CTG GAA 315
ATC AAA CGG 324
```

【0089】配列番号：49

トポロジー：直鎖状

配列の長さ：351

配列の種類：cDNA to mRNA

配列の型：核酸

起源 細胞の種類：マウスハイブリドーマ細胞CRA5

鎖の数：二本鎖

配列

```
CAG GTG AAG CTG CAG CAG TCT GGG GGA GGC TTA GTG CAG CCT GGA 45
GGG TCC CTG AAA CTC TCC TGT GCA ACC TCT GGA TTT ACT GAC TAT 90
TAC ATG TTT TGG GTT CGC CAG ACT CCA GAG AAG AAG CTG GAG TGG 135
GTC GCA TAC ATT AGT GAT GGT GAT ATT AGC ACC TAT TAT CCA GAC 180
ACT GTA AAG GGC CGA TTC ACC ATC TCC AGA GAC AAT GCC AAG AAC 225
ACC CTG TAC CTG CAA ATG AGC CGT CTG AAG TCT GAG GAC ACA GCC 270
ATG TAT TAC TGT GCA AGA GGA AAC TAT AGG TAC GGC TAT GCT GTG 315
GAC TAC TGG GGC CAA GGG ACC ACG GTC ACC GTC TCC TCA 354
```

【0090】配列番号：50

トポロジー：直鎖状

配列の長さ：327

配列の種類：cDNA to mRNA

配列の型：核酸

起源 細胞の種類：マウスハイブリドーマ細胞CRA5

鎖の数：二本鎖

配列

```
GAC ATC CAG ATG ACC CAG TCT CCA ACC ACC ATG GCT GCA TCT CCC 45
GGG GAG AAG ATC ACT ATC ACC TGC AGT GCC AGC TCA AGT ATA AGT 90
TCC AAT TAC TTG CAT TGG TAT CAG CAG AAG CCA GGA TTC TCC CCT 135
AAA CTC TTG ATT TAT AGG ACA TCC AAT CTG GCT TCT GGA GTC CCA 180
GCT CGC TTC AGT GGC AGT GGG TCT GGG ACC TCT TAC TCT CTC ACA 225
ATT GGC ACC ATG GAG GCT GAA GAT GTT GCC ACT TAC TAC TGC CAG 270
CAG GGT AGT AGT ATA CCA CTC ACG TTC GGT GCT GGG ACC AAG CTG 315
GAG CTG AAA CGG 327
```

フロントページの続き

(51)Int. Cl. ⁶	識別記号	序内整理番号	F I	技術表示箇所
C 1 2 N 15/02				
15/09	Z N A			
C 1 2 P 21/08		9161-4B		
G 0 1 N 33/53		D		
33/577		B		
// A 6 1 K 39/395	A B F			
(C 1 2 P 21/08				
C 1 2 R 1:91)				
		9281-4B	C 1 2 N 15/00	Z N A A

(72)発明者 羅 智靖
千葉県千葉市花見川区花園 2-14-13
(72)発明者 奥村 康
千葉県千葉市中央区松波 1-14-9
(72)発明者 高井 敏朗
東京都大田区大森北 2-13-1 アサヒビ
ール株式会社中央研究所内

(72)発明者 奥村 康
東京都大田区大森北 2-13-1 アサヒビ
ール株式会社中央研究所内
(72)発明者 佐藤 恵士
千葉県千葉市緑区高田町396-24 シティ
ーハイムユートピア Y-102
(72)発明者 渋谷 一郎
千葉県柏市増尾字松山967番地 ニッカウ
キスキー株式会社生産技術研究所内